

Ekspresi Glukosa Transporter 2 Sel Beta Pankreas pada Tikus yang Diinduksi Streptozotocin dan Nikotinamid

Expression of Glucose Transporter 2 of Beta Pancreatic Cells in Streptozotocin-Nicotinamide-Induced Rats

Jena Hayu Widyasti^{1*}

Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta
*email: jenahayu89@gmail.com

ABSTRAK

Diabetes Melitus (DM) tipe II terjadi pada individu dengan resistensi insulin atau kerusakan sel β pankreas sehingga tidak mampu merespon glukosa untuk menghasilkan insulin. Insulin merupakan hormon penting dalam transport glukosa. Glukosa transporter 2 (GLUT-2) pada membran sel β pankreas bertanggung jawab pada transport glukosa yang akan menstimulasi sekresi insulin. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui ekspresi protein GLUT-2 pada sel β pankreas tikus yang diinduksi Streptozotocin (STZ)-Nikotinamid (NA).

Penelitian menggunakan 2 kelompok tikus Wistar jantan. Kelompok I sebagai kontrol normal; kelompok II diinduksi STZ-NA. Dosis yang digunakan pada induksi STZ yaitu 50 mg/kg BB tikus dan NA 110 mg/kg BB tikus. Pengamatan ekspresi protein GLUT-2 sel β pankreas tikus dilakukan secara imunohistokimia.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi penurunan densitas GLUT-2 sel pada β pankreas tikus yang diinduksi STZ-NA dibandingkan dengan kelompok tikus normal.

Kata kunci : GLUT-2, Induksi STZ-NA, DM

ABSTRACT

Diabetes Mellitus (DM) type II occurs in individual with insulin resistance or β pancreatic cells damage which is not able to respond glucose and produce insulin. Insulin is an important hormone in glucose transport. Glucose transporter (GLUT-2) in β pancreatic cell membranes is responsible for glucose transport that will stimulate insulin secretion. The purpose of this research was to the effect on GLUT-2 protein expression in pancreatic β cells of Streptozotocin-Nicotinamide-induced (STZ-NA) rats.

This research performed using two groups of male Wistar rats. Group I was normal control group, while Groups II were induced with STZ-NA. The dosage used in STZ induction is 50 mg / kg WB rats and NA 110 mg / kg WB rats. The expression of GLUT-2 protein in β pancreatic cells in rats were observed by using immunohistochemistry method.

The result showed that the density of GLUT-2 protein in β pancreatic cells significantly decreased in the group STZ-NA-induced rats comparing to normal control group.

Key Word : GLUT-2, STZ-NA induced, DM

PENDAHULUAN

DM merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia karena tubuh tidak dapat menghasilkan insulin atau terjadi peningkatan resistensi insulin. Hiperglikemia kronis dan gangguan metabolik lainnya pada DM dalam

jangka panjang dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan organ serta disfungsi yang melibatkan mata, ginjal, saraf dan sistem vaskular (Cavallerano, 2009). DM tipe II terjadi pada individu dengan resistensi insulin dan kerusakan pada sel β pankreas yaitu sel β pankreas tidak mampu merespon

glukosa untuk menghasilkan insulin. Insulin merupakan faktor penting dari transport glukosa. Kadar insulin yang tinggi dalam tubuh menyebabkan tidak adanya glikogenolisis dan merangsang penyerapan glukosa ke dalam otot, hati dan jaringan adiposa (Rose dan Ritcher, 2005). Glukosa transporter (GLUT-2) pada membran sel β pankreas bertanggung jawab untuk transport glukosa yang akan menstimulasi untuk sekresi insulin (Othsubo *et al.*, 2005), hal ini menyebabkan terjadi depolarisasi pada membran plasma karena penutupan kanal K^+ ATP dependent dan Ca^{2+} sehingga mensekresi granul insulin (Henquin *et al.*, 2003). Ekspresi gen dari GLUT-2 dipengaruhi oleh kondisi metabolik dan juga jaringan tertentu. Ekspresi gen GLUT-2 dalam hati dan sel β pankreas dipengaruhi oleh glukosa darah dan insulin. Dalam model hewan diabetes, tingkat GLUT 2 mRNA meningkat dalam hati (Rencurel, 1996), tetapi menurun dalam sel β pankreas (Ohneda, 1993). Penelitian yang dilakukan oleh Ferrer *et al.* (1995) yaitu membandingkan ekspresi GLUT-2 pada manusia DM dan tanpa DM. Ekspresi GLUT-2 pada islet pankreas manusia DM tipe II lebih rendah dibandingkan dengan manusia yang tidak mengalami DM tipe II.

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan mengetahui ekspresi protein GLUT-2 pada sel β pankreas tikus yang diinduksi STZ-NA.

METODE PENELITIAN

Dalam penelitian ini menggunakan tikus wistar jantan sebanyak 10 ekor dengan 2 kelompok

perlakuan. Kelompok I sebagai kontrol normal (hanya diberi pakan pelet dan air), kelompok II diberikan induksi STZ-NA.

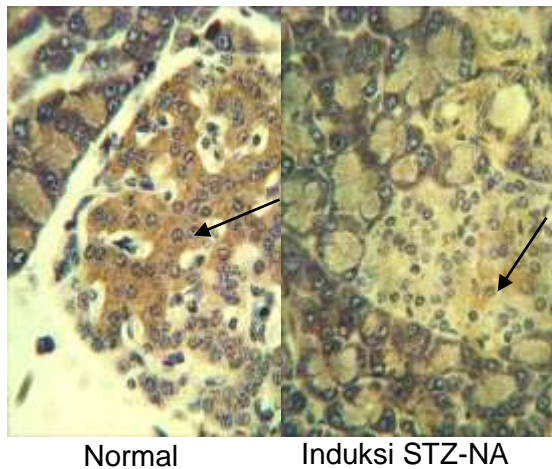
Induksi diabetes dilakukan dengan pemberian STZ dalam 0,1 M buffer sitrat pH 4,5 (Kulkarni *et al.*, 2012). Pemberian NA dalam larutan saline. Menginduksi hewan uji menggunakan kombinasi STZ dengan dosis 50 mg/kg BB tikus dan NA dengan dosis 110 mg/kg BB tikus yang diberikan satu kali sehingga dapat menyebabkan DM dalam lima hari setelah induksi. NA diberikan 15 menit sebelum pemberian STZ. Induksi STZ dan NA diberikan secara intraperitoneal.

Prosedur *Immunohistochemistry* (IHC) dilakukan dengan tiga tahapan yaitu (1) preparasi *slide* sampel jaringan β pankreas (2) optimasi pengenceran dan *operating time* antibodi antiGLUT-2, (3) *Immunohistochemistry* (IHC) terhadap sampel, fotomikroskopi dan semikuantitatif densitas ekspresi protein GLUT-2.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan protein GLUT-2 dilakukan dengan menghitung secara semikuantitatif dari densitas warna cokelat pada sel β pankreas tikus yang telah dilakukan pengecatan secara imunohistokimia dengan menggunakan antibodi antiGLUT-2. Foto hasil pengamatan dengan metode imunohistokimia dapat dilihat pada gambar 1. Hasil pengecatan GLUT-2 secara imunohistokimia pada sel β pankreas yaitu ditunjukkan dengan warna cokelat pada daerah sitoplasma

sel. Warna coklat ditimbulkan karena adanya protein GLUT-2 pada sel β pankreas yang mensekresikan insulin, yaitu sel β yang terdapat dalam insula langerhans pankreas. Hal ini sesuai dengan penelitian Xiong *et al.* (2011) yaitu melakukan pengecatan secara imunohistokimia protein GLUT-2 pada *islet* pankreas.



Gambar 1. Hasil pewarnaan imunohistokimia GLUT-2 pada sel β pankreas. Tanda panah menunjukkan adanya GLUT-2 pada sel β pankreas dalam insula langerhans yang memberikan warna coklat.

Sel β pankreas mensekresikan insulin sebagai respon tingkat glukosa tinggi dalam peredaran darah. GLUT-2 sebagai transporter untuk membawa masuk glukosa sehingga terjadi peningkatan konsentrasi glukosa pada insula langerhans, menyebabkan produksi ATP meningkat, ion Potasium meningkat dan terjadi depolarisasi Ca^{2+} sehingga sel β pankreas mensekresikan insulin (Henquin *et al.*, 2003).

Tabel 1. Hasil rata-rata persentase densitas warna protein GLUT-2 pada sel β pankreas secara imunohistokimia

Kelompok Perlakuan	Rata-rata persentase densitas warna protein GLUT-2
Normal	100
Induksi STZ-NA	32,31

Hasil pengamatan protein GLUT-2 dilakukan dengan menghitung secara semikuantitatif dari densitas warna coklat pada sel β pankreas tikus yang telah dilakukan pengecatan secara imunohistokimia dengan menggunakan antibodi antiGLUT-2. Hasil perhitungan protein GLUT-2 secara semikuantitatif antar kelompok perlakuan dapat dilihat pada gambar 1.

Pada penelitian ini, ekspresi protein GLUT-2 dinyatakan dalam persentase densitas warna coklat. Ekspresi protein GLUT-2 menurun pada sel β pankreas karena akibat induksi STZ-NA yang menimbulkan toksisitas pada sel β pankreas sehingga mengalami kerusakan dan menurunkan sekresi insulin dan meningkatkan kadar glukosa darah, hal ini ditunjukkan pada gambar 1 dimana persentase densitas warna coklat protein GLUT-2 pada kelompok tikus induksi STZ-NA hasilnya adalah 32,31 %. Sebaliknya pada kontrol normal menunjukkan persentase densitas warna coklat protein GLUT-2 yang tinggi dan dianggap 100%, karena tidak diberikan induksi STZ-NA sehingga tidak

mengalami kerusakan pada sel β pankreas.

Penelitian yang dilakukan oleh Ferrer *et al.* (1995) yaitu membandingkan ekspresi GLUT-2 pada manusia DM dan tanpa DM. Ekspresi GLUT-2 pada islet pankreas manusia DM tipe II lebih rendah dibandingkan dengan manusia yang tidak mengalami DM tipe II. Penelitian yang dilakukan oleh Arya *et al.* (2014) bahwa ekstrak *Pseudovaria macrophylla* pada tikus DM yang diinduksi STZ dan NA dapat menurunkan kadar glukosa darah yang ditunjukkan dengan peningkatan ekspresi GLUT-2 pada sel β pankreas. Sekresi insulin dari sel β pankreas merupakan proses kompleks yang melibatkan integrasi dan interaksi berbagai stimulus eksternal dan internal sebagai respon perubahan kadar glukosa darah (Henquin *et al.*, 2003). Secara molekuler mekanisme glukosa menginduksi sekresi insulin melalui beberapa tahapan berikut yaitu peningkatan kadar glukosa diantara sel β pankreas, glukosa masuk ke dalam sel β pankreas melalui difusi yang difasilitasi oleh protein GLUT-2. Intraseluler glukosa di metabolisme membentuk ATP, mengakibatkan terjadinya peningkatan rasio ATP/ADP dan kadar glukosa darah intraseluler yang tinggi menyebabkan depolarisasi membran sel serta menginduksi penutupan K^+ ATP *channel* pada permukaan sel, diikuti dengan terbukanya *Cell -surface voltage dependent Calcium channels (VDCC)*, influks Ca^{2+} ke dalam sel β , penambahan *cytosolic Calcium* bebas memicu sekresi insulin, molekul insulin

masuk ke dalam sirkulasi darah terikat dengan reseptor. Ikatan insulin dan reseptornya membutuhkan glukosa transporter untuk dapat masuk ke dalam sel otot dan jaringan lemak serta ambilan glukosa dengan efisien, sehingga dapat menurunkan kadar glukosa darah (Henquin *et al.*, 2003).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa tikus yang diinduksi STZ-NA dapat menurunkan ekspresi GLUT-2 sel β pankreas.

DAFTAR PUSTAKA

- Arya A, Taha H, Khan AK *et al.* 2014. In vivo antidiabetic and antioxidant potential of *Pseudovaria macrophylla* extract. *International Journal of Medical, Health, Pharmaceutical and Biomedical Engineering* 8:514-517.
- Cavallerano, J. O. D. Ph.D. 2009. Care of The Patient with Diabetes Mellitus. <http://www.aoa.org/documents/CPG-3.pdf>.
- Ferrer J, Benito C, Gomis R. 1995. Pancreatic islet GLUT2 glucose transporter mRNA and protein expression in humans with and without NIDDM. *Diabetes* 44: 1369-1374.
- Henquin JCMA, Ravier M, Nenquin JC *et al.* 2003. Hierarchy of the beta-cell signals controlling insulin secretion. *European Journal of Clinical Investigation* 33(9):742-750.
- Kulkarni CP, Bodhankar SR, Gule AE *et al.* 2012. Antidiabetic activity

- of *Trigonella foenumgraecum* L. Seeds extract (ind01) in neonatal Streptozotocin-induced (n-stz) rats. *Diabetologia Croatica* 41-1: 29-40.
- Ohneda M, Johnson JH, Inman LR, Chen L, Suzuki K, Goto Y, Alam T, Ravazzola M, Orci L, Unger RH. GLUT2 expression and function in beta-cells of GK rats with NIDDM. Dissociation between reductions in glucose transport and glucose-stimulated insulin secretion. *Diabetes* 1993, 42, 1065–1072.
- Ohtsubo KS, Takamatsu MT, Minowa A *et al.* 2005. Dietary and genetic control of glucose transporter 2 glycosylation promotes insulin secretion in suppressing diabetes. *Cell* 123(7):1307-1321.
- Rencurel F, Waeber G, Antoine B, Rocchiccioli F, Maulard P, Girard J, Leturque A. Requirement of glucose metabolism for regulation of glucose transporter type 2 (GLUT2) gene expression in liver. *Biochem. J.* 1996, 314, 903–909.
- Rose AJ, Richter EA. 2005. Skeletal muscle glucose uptake during exercise: how is it regulated?. *Physiology* 20(4):260-270.
- Xiong X, Wang X, Li B *et al.* 2011. Pancreatic islet-specific overexpression of Reg3_γ protein induced the expression of pro-islet genes and protected the mice against streptozotocin induced diabetes mellitus. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 300: E669–E680.